Gélose VRBL

DOMAINE D'UTILISATION

La gélose lactosée biliée au cristal violet et au rouge neutre (VRBL) est un milieu sélectif utilisé pour les recherche et dénombrement des coliformes dans l'eau, le lait, les produits laitiers et les autres produits alimentaires.

HISTORIQUE

Ce milieu a été étudié par un grand nombre de chercheurs : MacCrady en 1932 pour le « Committee on Standards Methods of Milk Analysis of the American Public Health Association », puis par Bartram et Black pour l'isolement des coliformes dans le lait cru et le lait pasteurisé, et également par Miller et Prickett dans une note concernant la recontamination du lait. Tous ces auteurs trouvèrent le milieu satisfaisant en raison de l'obtention de résultats complets en 24 heures d'incubation.

PRINCIPES

- La présence simultanée de cristal violet et de sels biliaires assure l'inhibition des bactéries à Gram positif.
- La fermentation du lactose se traduit par une acidification, révélée par le virage au rouge de l'indicateur pH (rouge neutre), et par la précipitation d'acides biliaires autour des colonies.

PREPARATION

- Mettre en suspension 38,5 g de milieu déshydraté (BK152) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution.
- Ne pas surchauffer.
- Ne pas autoclaver.

NOTA :

Le milieu peut être additionné de MUG (4-méthyl-umbelliféryl-ß-D-glucuronide) afin de détecter *Escherichia coli* (se référer à la monographie concernant le supplément MUG 50 mg BS024).

Avec les milieux prêts-à-liquéfier (BM034 ou BM035), faire fondre la gélose pendant le minimum de temps nécessaire à sa reliquéfaction totale.

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr

MODE D'EMPLOI

- Refroidir et maintenir le milieu à 44-47°C.
- Transférer 1 mL du produit à analyser et de ses dilutions décimales dans des boîtes de Petri stériles.
- Couler 12 mL de gélose.
- Homogénéiser parfaitement.
- Laisser solidifier sur une surface froide.
- Couler à nouveau 4 mL de milieu, de façon à former une deuxième couche.
- Laisser solidifier.
- Incuber :
    - à 30°C pendant 24 heures pour la recherche et le dénombrement des coliformes.
    - à 44°C pour les coliformes thermotolérants.

LECTURE

Les coliformes présentent des colonies violacées de diamètre égal ou supérieur à 0,5 mm après 24 heures d'incubation. Les entérobactéries lactose-négatif sont incolores. Dans le cadre du protocole opératoire décrit par la norme NF ISO 4832, il pourra s'avérer nécessaire de confirmer les colonies atypiques éventuellement obtenues, en recherchant leur caractère gazogène en bouillon lactosé bilié au vert brillant (BLBVB) (BK002, BM011).

FORMULE - TYPE

(pouvant être ajustée de façon à obtenir des performances optimales)

Pour 1 litre de milieu :

- Peptone pepsique de viande ..... 7,0 g
- Extrait autolytique de levure ..... 3,0 g
- Lactose ..... 10,0 g
- Sels biliaires..... 1,5 g
- Chlorure de sodium ..... 5,0 g
- Rouge neutre ..... 30,0 mg
- Cristal violet ..... 2,0 mg
- Agar agar bactériologique..... 12,0 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 7,4 ± 0,2.

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr

CONTRÔLE QUALITE

- Milieu déshydraté : poudre beige à beige rosé, fluide et homogène.
- Milieu préparé : gélose rougeâtre.
- Réponse culturale typique après 24 heures d'incubation à 30°C et à 44°C :

Microorganismes		Croissance (Rapport de productivité : P_R)	Caractéristiques
Escherichia coli	ATCC® 25922	$P_R \geq 50\%$	colonies rouge violacé
**Escherichia coli*	ATCC 8739	$P_R \geq 50\%$	colonies rouge violacé
Pseudomonas aeruginosa	ATCC 27853	bonne, score 2	colonies beige rosé
Enterococcus faecalis	ATCC 29212	inhibée, score 0	

* Dans le cadre du contrôle qualité des références BM03408 et BM03508, cette souche est uniquement testée à 30°C

STOCKAGE / CONSERVATION

Milieu déshydraté : 2-30°C.
- La date de péremption est mentionnée sur l'étiquette.
- Milieu préparé : utiliser dans les 4 heures après préparation (à titre indicatif).

Supplément MUG 50 mg :
- Stocker entre 2 et 8°C, à l'abri de la lumière.
- La date de péremption est mentionnée sur l'étiquette.

Milieu prêt-à-liquéfier en flacons :
- Stocker entre 2 et 8°C, à l'abri de la lumière.
- La date de péremption est mentionnée sur l'étiquette.

PRESENTATION

	Code
Milieu prêt-à-liquéfier :	
- Pack de 10 flacons de 100 mL	BM03408
- Pack de 10 flacons de 200 mL	BM03508
Milieu déshydraté :	
- Flacon de 500 g	BK152HA
- Fût de 5 kg	BK152GC
Supplément MUG 50 mg :	
- Coffret de 10 flacons	BS02408

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr

SUPPORT PHOTO :

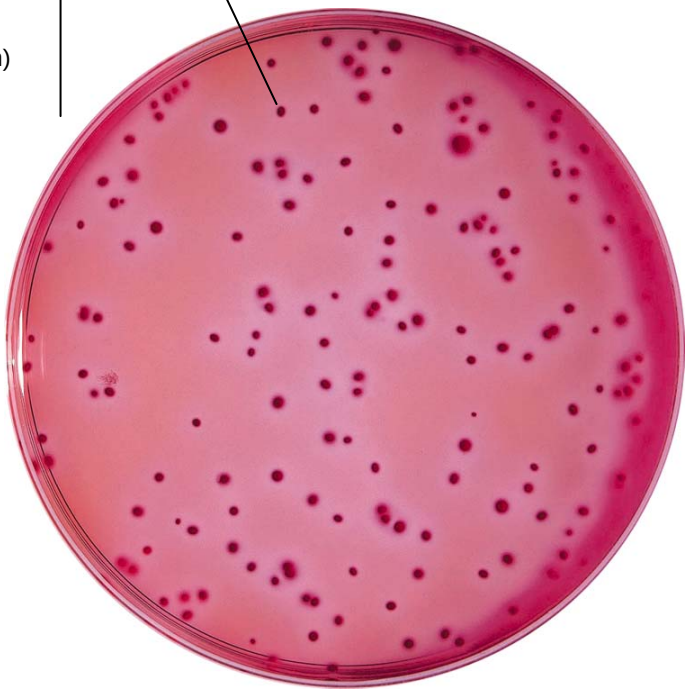
Référence : BK152HA, GC, BM03408, BM03508

Domaine d'utilisation : Les recherche et dénombrement des coliformes dans l'eau, le lait, les produits laitiers et les autres produits alimentaires.

Escherichia coli

Colonie caractéristique

couleur violette (∅ 0,5 mm)
entourée d'un halo violet



Gélose VRBL

Réf : BM03408

Incubation 24 heures à 30°C (profondeur)

Colonies caractéristiques violettes de diamètre égal ou supérieur à 0,5 mm, entourées d'un halo violet de sels biliaires précipités.

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

XP CEN ISO/TS 11133-2 (V 08-104-2). Janvier 2004. Microbiologie des aliments. Guide pour la préparation et la production des milieux de culture. Partie 2 : Guide général pour les essais de performance des milieux de culture.

NF ISO 4832 (V 08-015). Juillet 2006. Microbiologie des aliments. Méthode horizontale pour le dénombrement des coliformes. Méthode par comptage des colonies.

NF V08-050. Avril 2009**.** Microbiologie des aliments. Dénombrement des coliformes présumés par comptage des colonies obtenues à 30°C .

NF V08-060. Avril 2009. Microbiologie des aliments. Dénombrement des coliformes thermotolérants par comptage des colonies obtenues à 44°C.

Les mentions portées sur l'étiquette sont prédominantes sur les formules ou les instructions décrites dans ce document.
Les informations et les spécifications contenues dans cette fiche technique ont été établies à la date du 2009-07-23.
Elles sont susceptibles d'être modifiées à tout moment, sans préavis.
Code document : BK152/F/2004-01 : 6.

Biokar Diagnostics – Rue des Quarante Mines – ZAC de Ther – Allonne – B.P. 10245 – F60002 Beauvais Cedex – France
Tél : + 33 (0)3 44 14 33 33 – Fax : + 33 (0)3 44 14 33 34 – www.biokar-diagnostics.fr